

УДК 611.7:612.57:616-092.9

© Кучеренко С.А., 2012

## ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ СЕРЕДИНЫ ДИАФИЗА БОЛЬШЕБЕРЦОВОЙ КОСТИ ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ В НЕЕ КЕРАМИЧЕСКОГО ГИДРОКСИЛАПАТИТА И ОБЛУЧЕНИИ ОБЪЕМНО-КОМБИНАЦИОННЫМИ ИМПУЛЬСНЫМИ ЭЛЕКТРО-МАГНИТНЫМИ ПОЛЯМИ

Кучеренко С.А.

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»

**Кучеренко С.А.** Гистологическое строение середины диафиза большеберцовой кости при имплантации в нее керамического гидроксилатапата и облучении объемно-комбинационными импульсными электро-магнитными полями // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, №3. – С. 157-160.

В эксперименте на 210 белых крысах-самцах с исходной массой 130-150 г установлено, что при имплантации в большеберцовую кость керамического гидроксилатапата и облучении объемно-комбинационными электромагнитными полями изменяется гистологическое строение середины ее диафиза как в сравнении с интактными животными, так и с группой с незаполненным дефектом. Выраженность и направленность отклонений зависят от вида имплантируемого материала и сроков эксперимента.

**Ключевые слова:** крысы, костный дефект, диафиз, керамический гидроксилатапатит, объемно-комбинационные импульсные электромагнитные поля.

**Кучеренко С.А.** Гістологічна будова середини діафіза великогомілкової кістки при імплантації в неї керамічного гідроксилатапату та опроміненні об'ємно-комбінаційними імпульсними електро-магнітними полями // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, №3. – С. 157-160.

В експерименті на 210 білих щурах-самцях з початковою масою 130-150 г встановлено, що при імплантації у великогомілкову кістку керамічного гідроксилатапату та опроміненні об'ємно-комбінаційними електромагнітними полями змінюється гістологічна будова середини її діафізу як у порівнянні з інтактними тваринами, так і з групою з незаповненим дефектом. Виразність і спрямованість відхилень залежать від виду імплантованого матеріалу і термінів експерименту.

**Ключові слова:** щури, кістковий дефект, діафіз, керамічний гідроксилатапатит, об'ємно-комбінаційні імпульсні електро-магнітні поля.

**Kucherenko S.L.** Histological structure of the tibial diaphysis after implantation in it ceramic hydroxyapatite and irradiation by volumetric-combinational pulse electro-magnetic fields // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, №3. – С. 157-160.

In the experiment on 210 white male rats with an initial weight of 130-150 g found that when implanted into the tibia of ceramic hydroxyapatite and irradiation by volumetric-combinational electromagnetic fields vary histology structures of the middle of diaphysis as compared with intact animals and a group with an empty defect. The degree and direction of the deviation depends on the type of implant material and the terms of the experiment.

**Key words:** rats, bone defect, diaphysis, ceramic hydroxyapatite, volumetric-combinational pulse electro-magnetic fields.

**Введение.** Для замещения костных дефектов широко используются материалы на основе гидроксилатапата (ГОА) [2, 3]. ГОА материалы весьма близки по химическому составу к минеральному веществу кости, однако они обладают только остеокондуктивными свойствами [11, 12]. Поэтому, в последние годы активно изучаются возможности сочетания ГОА керамики с другими материалами, обладающими остеиндуктивными свойствами, с целью оптимизации репаративного остеогенеза [3, 7, 8 и др.].

Согласно данным R.K.Aaron и D.M. Ciombor [10] электромагнитные импульсы обладают способностью стимулировать энхондральный остеогенез за счет активации синтеза органического матрикса, то есть обладают остео-

индуктивным действием. Проведенные нами ранее исследования также показали, что объемно-комбинационные импульсные электромагнитные поля (ОКИ ЭМП) активизируют в интактной кости синтез органического матрикса и ускоряют его минерализацию, оптимизируют ультраструктуру формирующегося биоминерала [6, 8]. В случае применения ОКИ ЭМП на фоне нанесения дефектов кости и имплантации в них гидроксилатапатитных материалов нивелируются и адаптационные изменения в гистологическом строении эпифизарных хрящей [4].

**Цель данного исследования** – изучить гистологическое строение середины диафиза большеберцовой кости (ББК) при имплантации в нее керамического гидроксилатапата в условиях общего воздействия ОКИ ЭМП. Работа является

фрагментом межфаедральной НИР Луганского государственного медицинского университета “Особенности роста, строения и регенерации трубчатых костей при пластике костных дефектов материалами на основе гидроксилапатита” (государственный регистрационный номер - 0103U006651).

**Материал и методы:** Исследование проведено на 210 белых крысах-самцах с исходной массой 130-150 г, распределенных на 5 групп. 1-ю группу составили интактные животные. Во 2-5-й группах крысам под эфирным наркозом стандартным стоматологическим бором наносили на границе между проксимальным метафизом и диафизом ББК сквозной дырчатый дефект диаметром 2,2 мм. Поскольку переднезадний размер ББК в этой области составляет не менее 3 мм, манипуляция не сопровождалась нарушением целостности костного органа и создавались условия для сохранения функциональной нагрузки [9]. В 3-й и 5-й группах дефект заполняли порошкообразной ГОА керамикой с размером частиц менее 63 мкм (производства НПП КЕРГАП, Киев, Украина).

Животных в 4-й и 5-й группах облучали ОКИ ЭМП с солитоноподобным формированием импульсов с использованием прибора «БИЭСТИМ-1м» с двумя магнитными индукторами площадью магнитного потока 13 см<sup>2</sup> и индукцией 0,01...0,05 Тесла (рабочая зона 14x14 см). Амплитуда магнитного поля составила 0,04/0,05 Тесла (поперечная конфигурация импульса) с частотой колебаний 800 кГц. В течение одного сеанса проводилось 5 импульсов длительностью 15 мкс с частотой следования 20 Гц; сеансы проводились через сутки в течение первых десяти дней после нанесения костного дефекта.

Все манипуляции на животных выполняли в соответствии с правилами европейской конвенции защиты позвоночных животных, использующихся в экспериментальных и других научных целях [13].

По истечении сроков эксперимента (7, 15, 30, 60 и 90 и 180 дней) животных декапитировали под эфирным наркозом, выделяли ББК, отделяли фрагменты середины диафизов, фиксировали их в 10% растворе нейтрального формалина, декальцинировали, обезвоживали и заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 10-12 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и исследовали при помощи окулярного винтового микрометра МОВ-1-15<sup>х</sup> ГОСТ 7865-56 по общепринятой методике [1]. Программа морфометрии включала в себя измерение ширины слоев диафиза: остеонного, наружных и генеральных пластинок, а также диаметров остеонных и их каналов [1]. Также рассчитывали и

площади поперечного сечения компактного вещества и костно-мозговой полости. Калибровку измерительных приборов производили с помощью миллиметрового отрезка ГОСТ 2 07513-55 2.

Все полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [5].

**Результаты и их обсуждение.** Все полученные данные в обязательном порядке оценивались в сравнении с аналогичными показателями одновозрастных интактных животных.

У интактных крыс в ходе наблюдения общая ширина слоев диафиза увеличивалась с  $418,12 \pm 3,19$  мкм до  $493,11 \pm 3,87$  мкм; это происходило за счет практически равномерного увеличения ширины всех его отдельных слоев. За период с 7 по 180 день наблюдения ширина слоев наружных и генеральных пластинок увеличилась соответственно с  $133,47 \pm 1,54$  мкм до  $155,56 \pm 1,68$  мкм и с  $117,21 \pm 1,33$  мкм до  $138,77 \pm 1,52$  мкм, а ширина остеонного слоя – с  $167,44 \pm 1,78$  мкм до  $198,78 \pm 2,13$  мкм.

Также в ходе наблюдения у интактных животных увеличивались и площади поперечного сечения костно-мозговой полости и компактного вещества диафиза – соответственно с  $1,45 \pm 0,02$  мм<sup>2</sup> до  $1,64 \pm 0,03$  мм<sup>2</sup> и с  $1,68 \pm 0,03$  мм<sup>2</sup> до  $1,97 \pm 0,04$  мм<sup>2</sup>.

При этом диаметры остеонных и их каналов за период с 7 по 180 день наблюдения уменьшились соответственно с  $46,18 \pm 0,51$  мкм до  $39,84 \pm 0,36$  мкм и с  $17,83 \pm 0,24$  мкм до  $11,78 \pm 0,14$  мкм.

Нанесение сквозного дырчатого дефекта диаметров 2 мм на границе проксимального метафиза и диафиза ББК сопровождалось изменениями гистологического строения середины ее диафиза на поперечном срезе. При этом максимальные отличия от контроля регистрировались на 7 и 15 день эксперимента, а затем постепенно сглаживались. На 180 день достоверные отличия исследуемых показателей от значений 1-й группы уже не наблюдались.

Площадь поперечного сечения компактного вещества середины диафиза была меньше значений 1-й группы на 7, 15, 30 и 90 день эксперимента соответственно на 5,36%, 5,85%, 6,86% и 6,77%. При этом площадь поперечного сечения костно-мозговой полости была больше контрольной с 7 по 60 день эксперимента соответственно на 7,59%, 8,84%, 7,95% и 5,84%.

Ширина остеонного слоя была меньше значений 1-й группы с 7 по 30 день эксперимента на 9,26%, 8,97% и 8,64%, а ширина слоя наружных генеральных пластинок на 7, 30 и 60 день – больше соответственно на 8,02%, 7,12% и 4,04%. При этом ширина слоя внутренних генеральных пластинок на 7 день была больше значений 1-й группы на 8,63%, на 15 день – меньше на 4,67%, а затем, в период с 30 по 90 день вновь

превосходила контрольные значений на 9,47%, 7,10% и 8,03%.

Наконец, диаметры остеонів были меньше значений 1-й группы с 7 по 30 день эксперимента соответственно на 5,24%, 6,35% и 4,35%. При этом диаметры каналов остеонів с 7 по 15 день были меньше контрольных на 15,20% и 13,65%, а с 30 по 90 день были уже больше их на 3,57%, 5,36% и 5,82%.

Имплантация в дефект ББК гидроксилатитного материала «Керган» в виде порошка также сопровождалась изменениями гистологического строения середины ее диафиза. При этом достоверные отличия от аналогичных показателей 1-й группы были выражены преимущественно до 30 дня эксперимента.

Площадь поперечного сечения костно-мозговой полости была больше значений 1-й группы на 7 и 15 день на 12,41% и 13,61%. При этом площадь поперечного сечения компактного вещества диафиза была меньше контрольной на 7, 14, 30 и 90 день эксперимента соответственно на 8,33%, 9,36%, 7,43% и 4,69%.

Ширина слоев наружных и внутренних генеральных пластинок была больше значений 1-й группы с 7 по 30 день эксперимента соответственно на 12,26%, 3,97% и 4,12%, и на 6,46%, 5,81% и 7,01%. В этот же период ширина остеонного слоя была меньше контрольной соответственно на 11,21%, 12,61% и 3,49%.

В этих условиях на 7 и 15 день эксперимента диаметры остеонів были меньше значений 1-й группы на 8,28% и 8,33%, а диаметры каналов остеонів – больше на 4,04% и 4,47%.

Сравнение с показателями 2-й группы (незаполненный дефект) показало, что площади поперечного сечения костно-мозговой полости и компактного вещества диафиза от контрольных показателей достоверно не отличались.

При этом ширина слоя наружных генеральных пластинок на 7 и 15 день была больше значений 2-й группы на 3,93% и 7,63%, а на 60 день – уже меньше на 4,94%. Аналогично, ширина слоя внутренних генеральных пластинок на 15 день эксперимента была больше значений 2-й группы на 10,99%, а на 60 и 90 день – уже меньше их на 3,88% и 6,62%. Наконец, ширина остеонного слоя была на 15 день меньше значений 2-й группы, а на 30 день превосходила их на 5,63%.

Диаметры каналов остеонів в целом изменялись аналогично: на 7 и 15 день эксперимента они были больше значений 2-й группы на 22,63% и 20,98%, а на 60 и 90 день были уже меньше их на 3,55% и 4,16%. Диаметры остеонів были меньше контрольных лишь на 7 день на 3,20%.

В том случае, когда животных с незаполненным сквозным дефектом ББК облучали ОКИ ЭМП достоверные отличия гистологического строения середины диафиза ББК от показателей 1-й группы регистрировались до 30 дня эксперимента.

Площадь поперечного сечения костно-

мозговой полости была больше значений 1-й группы с 7 по 30 день эксперимента соответственно на 10,34%, 14,29% и 8,61%, а площадь компактного вещества диафиза на 7 и 15 день была меньше контрольной на 8,93% и 9,94%.

При этом ширина слоя наружных генеральных пластинок с 7 по 30 день эксперимента была больше значений 1-й группы соответственно на 11,07%, 8,39% и 4,33%, а ширина слоя внутренних генеральных пластинок на 7 и 30 день – на 12,14% и 5,06%. Ширина остеонного слоя при этом была меньше контрольной на 7 и 15 день на 12,09% и 6,96%.

Также, диаметры остеонів были меньше значений 1-й группы с 7 по 30 день эксперимента на 6,95%, 5,96% и 3,63%, а диаметры остеонів на 15 день были больше контрольных на 3,56%.

Сравнение с 2-й группой показало, что площадь поперечного сечения костно-мозговой полости была больше контрольной лишь на 15 день на 5,00%. При этом площадь поперечного сечения компактного вещества диафиза на 90 день наблюдения была уже больше значений 2-й группы на 8,38%.

На 7 и 15 день эксперимента ширина слоя наружных генеральных пластинок была больше значений 2-й группы на 2,83% и 12,20%, а ширина слоя внутренних генеральных пластинок на 7 день – на 3,24%. Позднее, ширина слоя внутренних генеральных пластинок была меньше значений 2-й группы с 30 по 90 день эксперимента соответственно на 4,03%, 4,27% и 6,31%, а ширина слоя наружных генеральных пластинок на 60 и 180 день – на 2,89% и 3,14%. Ширина остеонного слоя при этом была больше показателей 2-й группы на 30 и 90 день эксперимента на 6,40% и 3,24%.

Наконец, диаметры каналов остеонів были больше значений 2-й группы на 7 и 15 день на 14,95% и 19,92%, а на 60 и 90 день были уже меньше их на 5,98% и 4,99%. Диаметры самих остеонів от показателей 2-й группы достоверно не отличались.

В том случае, когда облучение подопытных животных ОКИ ЭМП проводили на фоне имплантации в ББК порошкообразного материала «Керган», достоверные отличия показателей гистологического строения середины диафиза от 1-й группы регистрировались лишь до 30 дня эксперимента.

Площадь поперечного сечения костно-мозговой полости была больше значений 1-й группы на 7 и 15 день эксперимента на 13,79% и 11,56%, а площадь поперечного сечения компактного вещества диафиза была меньше контрольной на 7 и 30 день на 9,54% и 4,57%.

При этом ширина слоя наружных генеральных пластинок была больше значений 1-й группы на 7 и 15 день на 14,01% и 9,56%, а ширина слоя внутренних генеральных пластинок на 7 и 30 день – на 12,12% и 7,27%. Ширина остеонного слоя на 7 и 15 день эксперимента была меньше контрольной на 14,46% и 7,98%.

Наконец, диаметры остеонов были меньше, чем в 1-й группе, на 7 и 15 день на 8,64% и 4,59%, а диаметры каналов остеонов на 7 день были больше контрольных на 5,89%.

Сравнение с 3-й группой показало, что площадь поперечного сечения компактного вещества диафиза была больше контрольной на 90 день на 4,92%.

При этом ширина слоя внутренних генеральных пластинок была на 7 день больше значений 3-й группы на 5,31%, а на 15 день была уже меньше их на 4,19%. Ширина слоя наружных генеральных пластинок была больше значений 3-й группы на 15 день на 5,38%. Ширина остеонного слоя на 7 день эксперимента была меньше значений 3-й группы на 3,67%, а на 15, 60 и 90 день была уже больше их соответственно на 5,29%, 4,00% и 3,43%.

Наконец, диаметры остеонов на 15 день эксперимента были больше значений 3-й группы на 4,08%, а диаметры каналов остеонов на 60 день – меньше на 3,44%.

**Заключение.** Таким образом, при имплантации в большеберцовую кость керамического гидроксилата и облучении объемно-комбинационными электромагнитными полями изменяется гистологическое строение середины ее диафиза как в сравнении с интактными животными, так и с группой с незаполненным дефектом. Выраженность и направленность отклонений зависят от вида имплантируемого материала, облучения и сроков эксперимента.

#### Перспективы дальнейших исследований.

Для подтверждения выявленных закономерностей в дальнейшем будет проведено рентгеноструктурное исследование костного биоминерала большеберцовых костей в условиях нашего эксперимента.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство / Г.Г. Автандилов – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Грунтовский Г.Х. Гидроксилатапитная керамика. Особенности взаимодействия с костной тканью / Г.Х. Грунтовский, С.В. Малышкина // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения (труды Крымского гос. мед. универ. им. С.И.Георгиевского) –1999. –Т. 135. – Часть 2. –С.127-129.
3. Керамічний гідроксилатапіт – новий матеріал для кісткової пластики в дитячій та підлітковій ортопедії / А.П. Крись-Пугач, В.А. Дубок, Р.В. Лучко, Н.В. Ульянчик // Ортопедия, травматология и протезирование –2000. -№1. – С.30-35.
4. Кучеренко С.А. Гистологическое строение проксимального эпифизарного хряща большеберцовой кости при имплантации в нее керамического гидроксилата и облучении объемно-комбинационными импульсными электромагнитными полями / С.А. Кучеренко // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, №2. – С. 46-49.

ческого гидроксилата и облучении объемно-комбинационными импульсными электромагнитными полями / С.А. Кучеренко // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, №2. – С. 46-49.

5. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Киев: Морин, 2000. – 320 с.
6. Лузин В.И. Влияние объемно-комбинационных импульсных электромагнитных полей на ростовые потенции скелета неполовозрелых белых крыс / В.И. Лузин // Медико-біологічні проблеми промислового регіону. - Луганськ: Віталіна. - 1997. - С. 37 - 44.
7. Лузин В.И. Гистоморфометрическое исследование регенерации костной ткани при имплантации порошкообразной гидроксилатапитной керамики в сочетании с деминерализованным костным матриксом / В.И. Лузин, В.В. Головченко, Е.П. Бережной // Украинский медицинский альманах. – 2001. – № 5. – С. 81-84.
8. Лузин В.И. Рентгеноструктурное исследование процессов репаративной регенерации большеберцовой кости крыс в условиях облучения электромагнитными волнами крайне высокой частоты / В.И. Лузин // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2000. - № 2. – С. 120-122.
9. Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных / В.И. Лузин, Д.В. Ивченко, А.А. Панкратьев, [и др.] // Украинский медицинский альманах. – 2005. – Том 8, №2 (додаток). – С. 162.
10. Aaron R.K. Acceleration of experimental endochondral ossification by biophysical stimulation of the progenitor cell pool / R.K. Aaron, D.M. Ciombor // Journal of Orthopaedic Research.- 1996.- № 14 (4). - P. 582-589.
11. Ducheyne P. The effect of calcium-phosphate ceramic composition and structure on in vitro behavior. I. Dissolution / P. Ducheyne, S. Radin, L. King // J. Biomed. Mater. Res. – 1993. – Vol. 27, № 1. – P. 25-34.
12. Properties of Calcium Phosphate Ceramics in Relation to Their In Vivo Behavior / T.J. Blokhuis, M.F. Termaat, F.C. den Boer et al.// J. Trauma. - 2000. -№1. -P.179-186.
13. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. - Strasbourg, 1986. - 52 p.

Надійшла 12.06.2012 р.

Рецензент: проф. С.А.Кашенко